

IFW

Patent

Customer No. 31561
Application No.: 10/709,413
Docket No. 12322-US-PA

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

In re application of

Applicant : Zhao
Application No. : 10/709,413
Filed : May 04, 2004
For : CELL DETECTION CHIP AND FABRICATING METHOD
THEREOF AND CELL DETECTING METHOD
Examiner : N/A
Art Unit : 1641

ASSISTANT COMMISSIONER FOR PATENTS
Arlington, VA 22202

Dear Sir:

Transmitted herewith is a certified copy of Taiwan Application No.: 92136376,
filed on: 2003/12/22.

A return prepaid postcard is also included herewith.

Respectfully Submitted,
JIANQ CHYUN Intellectual Property Office

Dated:

August 9, 2004

By:

Belinda Lee

Belinda Lee

Registration No.: 46,863

Please send future correspondence to:

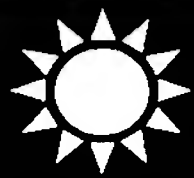
7F.-1, No. 100, Roosevelt Rd.,

Sec. 2, Taipei 100, Taiwan, R.O.C.

Tel: 886-2-2369 2800

Fax: 886-2-2369 7233 / 886-2-2369 7234

E-MAIL: BELINDA@JCIPGroup.com.tw; USA@JCIPGroup.com.tw



中華民國經濟部智慧財產局

INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE
MINISTRY OF ECONOMIC AFFAIRS
REPUBLIC OF CHINA

茲證明所附文件，係本局存檔中原申請案的副本，正確無訛，
其申請資料如下：

This is to certify that annexed is a true copy from the records of this
office of the application as originally filed which is identified hereunder

申請日：西元 2003 年 12 月 22 日
Application Date

申請案號：092136376
Application No.

申請人：威今基因科技股份有限公司、趙雨杰
Applicant(s)

CERTIFIED COPY OF
PRIORITY DOCUMENT

局長
Director General

蔡練生

發文日期：西元 2004 年 5 月 31 日
Issue Date

發文字號：09320508770
Serial No.

發明專利說明書

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：

※申請日期：

※IPC 分類：

壹、發明名稱：(中文/英文)

細胞檢測晶片及其製造方法以及細胞的檢測方法

CELL DETECTION CHIP AND FABRICATING METHOD THEREOF AND
METHOD OF DETECTING CELL

貳、申請人：(共 2 人)

姓名或名稱：(中文/英文)

1. 威今基因科技股份有限公司/WE GENE TECHNOLOGIES, INC.

2. 趙雨杰/ ZHAO, YU-JIE

代表人：(中文/英文)(簽章) 1. 盧崑山/LU, KUN-SHAN

住居所或營業所地址：(中文/英文)

1. 花蓮縣花蓮市富吉路 58-3 號/NO. 58-3, FUJI RD., HUALIEN CITY, HUALIEN
COUNTY 970, TAIWAN (R.O.C.)

2. 中華人民共和國遼寧省瀋陽市鐵西區南七中路 66-2-331 號/ NO. 66-2-331,
NAN-CHI-JUNG RD., TIE-SHI DISTRICT, SHENYANG CITY, LIAONING PROVINCE,
CHINA.

國籍：(中文/英文) 1. 中華民國/TW 2. 中國大陸/ CN

參、發明人：(共 1 人)

姓名：(中文/英文)

趙雨杰/ ZHAO, YU-JIE

住居所地址：(中文/英文)

中華人民共和國遼寧省瀋陽市鐵西區南七中路 66-2-331 號/ NO. 66-2-331,
NAN-CHI-JUNG RD., TIE-SHI DISTRICT, SHENYANG CITY, LIAONING PROVINCE,
CHINA.

國籍：(中文/英文) 中國大陸/ CN

肆、聲明事項：

☐ 本案係符合專利法第二十條第一項 ☐ 第一款但書或 ☐ 第二款但書規定
之期間，其日期為： 年 月 日。

◎本案申請前已向下列國家（地區）申請專利 ☐ 主張國際優先權：

【格式請依：受理國家（地區）；申請日；申請案號數 順序註記】

1.

2.

3.

4.

5.

☐ 主張國內優先權(專利法第二十五條之一)：

【格式請依：申請日；申請案號數 順序註記】

1.

2.

☐ 主張專利法第二十六條微生物：

☐ 國內微生物 【格式請依：寄存機構；日期；號碼 順序註記】

☐ 國外微生物 【格式請依：寄存國名；機構；日期；號碼 順序註記】

☐ 熟習該項技術者易於獲得，不須寄存。

伍、中文發明摘要：

一種微陣列檢測晶片，此微陣列檢測晶片包括多個探針固定於一基材上，且每一個探針與一細胞膜表面上對應之特異性分子之間具有親和力。由於這些探針係與細胞膜表面上之特異性分子有關，因此，利用此微陣列檢測晶片可以用來識別不同的細胞類型。

陸、英文發明摘要：

A microarray detection chip is described. The detection chip includes several probes immobilized on a matrix, and these probes have affinity with corresponding specific molecules on a cell membrane surface. Since these probes have specific affinity with the corresponding specific molecules on the cell membrane surface, this microarray detection chip can be used to recognize different types of the cells.

柒、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第 (1) 圖。

(二)本代表圖之元件代表符號簡單說明：

100、102、104、106、108、110、112、114、116：

步驟標號

捌、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

玖、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明是有關於一種生醫檢測裝置及其製造方法及其檢測方法，且特別是有關於一種細胞檢測晶片(Cell Detection Chip)及其製造方法及其檢測方法。

【先前技術】

生物科技(Biotechnology)產業是目前全球所公認之明星產業之一。生物科技所涵蓋的範疇很廣，舉凡基因工程、農漁養殖、製藥、醫療、健康食品、養生保健都與其相關。簡而言之，生物科技是一種利用生物個體，所發展出有助於提升人類生活品質的科技。

生物科技的其中一環係為生物晶片(Biochip)的研發。生物晶片是一種結合了分子生物學、基因資訊與分析化學等原理，所得之縮小化(Minimized)的檢測裝置。而且，相較於一般傳統之生化分析，生物晶片具有使用試劑較少、快速檢驗、檢測成本低廉且檢測結果精確等優點。一般來說，生物晶片可分為感測型晶片(Sensing Chip)及處理型晶片(Processing Chip)二大類。以生物晶片的發展來說，處理型晶片是生物晶片發展的最終目標，而感測型晶片是現今市場發展的主流。

感測型晶片由於將數十個，甚至數百個與生命相關的訊息分子，以陣列排列的方式匯集於一個小體積的基材(Matrix)(例如：玻璃)上。因此，此類型的晶片又可稱為微陣列(Microarray)檢測晶片。感測型晶片主要是利用配置於基材上的探針(Probe)與待測樣本中的某一特定成分之間具

有特異性(Specificity)，即專一性，達到檢測的目的。以感測型晶片中的 DNA 晶片來說，晶片上的探針係由不同的去氧核糖核酸(Deoxyribonucleotide)序列所構成。當待測樣本(例如：患者檢體)中所含之去氧核糖核酸序列與某一探針序列互補時，即表示此待測樣本對於該處的探針”有反應”，而此”反應”具有特定之檢測上的意義。

另一方面，當人們罹患惡性腫瘤(Malignancy)等重大疾病時，因基因的突變(Mutant Gene)所產生之特異性的蛋白質，會在病變細胞(Pathological Changes Cell)的不同部位呈現出來，所以人體中會同時存在有正常細胞與病變的細胞。因此，細胞學檢測(Cytology Detection)在惡性腫瘤的診斷與治療中是相當重要的。

【發明內容】

於是，本發明之發明人基於上述感測型晶片之特異性的檢測原理，係針對存在於細胞膜(Cell Membrane)表面上之特異性分子，設計多個對應這些特異性分子的探針，並藉由特異性分子與探針之間所存在之親和力(Affinity)，達到檢測的目的。因此，本發明係應用微陣列晶片的技術，發展出一種快速且精準的細胞檢測晶片及其製作方法及其檢測方法。

有鑑於此，本發明的目的就是在提供一種細胞檢測晶片的製造方法，以製作出一種可以用來辯識正常細胞與病變的細胞之檢測晶片。

本發明的再一目的是提供一種細胞之微陣列檢測晶片，以同時檢測多種細胞類型。

本發明的又一目的是提供一種細胞的檢測方法，以快速且精準地分析出細胞的類型(例如：正常細胞與病變細胞)，進而給予患者適當的治療。

本發明提出一種細胞檢測晶片的製造方法，此方法係先設計多數個探針分子(Probe Molecule)，且每一個探針分子與一細胞膜表面上對應之特異性分子之間具有親和力。其中，這些特異性分子例如是抗體(Antibody)與抗原(Antigen)所組成之族群其中之一。然後，進行探針合成(Synthesis)步驟，以形成多數個探針。接著，進行點樣步驟，以將這些探針分別點樣(Spot)於基材(Matrix)上。特別是，在設計這些探針分子時，更包括同時設計多數個質控探針(Control Probe)以及/或是多數個陣列位置指示探針(Location Indicate Probe)，並與上述這些探針分子一樣進行合成以及點樣步驟。

本發明提出一種微陣列檢測晶片，此微陣列檢測晶片係適用於檢測一細胞膜表面上之特異性分子，且此特異性分子例如是抗體與抗原所組成之族群其中之一。此微陣列檢測晶片包括多數個探針，固定(Immobilized)於一基材上，且每一個探針與細胞膜表面上對應之特異性分子之間具有一親和力。此外，此微陣列檢測晶片更可包括固定有多數個質控探針以及/或是多數個陣列位置指示探針。

本發明提出一種細胞的檢測方法，此檢測方法係適用於檢測一細胞膜表面上之多數個特異性分子，此方法係先提供一微陣列檢測晶片，其係為先前所述之微陣列檢測晶片。然後，取得患者之一檢體，且此檢體中包括有多數個

游離細胞(Free Cell)。接著，進行一細胞反應步驟，以使這些游離細胞之細胞膜表面上的特異性分子與微陣列檢測晶片上之探針反應。繼之，進行細胞固定(Fix)步驟，以使這些游離細胞固定於微陣列檢測晶片上。之後，對此微陣列檢測晶片進行一分析步驟。

由於本發明之微陣列檢測晶片上係分布有多個與細胞膜表面上的特異性分子有關之分子探針，因此，此檢測晶片可以辯識出不同的細胞(例如：正常細胞與病變細胞)，並且確認患者所罹患之疾病的類型，以作為提供患者適當的治療的參考依據。

為讓本發明之上述和其他目的、特徵、和優點能更明顯易懂，下文特舉一較佳實施例，並配合所附圖式，作詳細說明如下：

【實施方式】

一個微陣列檢測晶片的製作工作主要在於探針的設計，唯有設計出與待測樣本中欲檢測之成分有關之特異性探針，此微陣列檢測晶片才能提供正確之訊息。本發明係基於上述之概念來進行細胞之微陣列檢測晶片的製作以及相關檢測，且以下係以檢測急性骨髓性白血病(Acute Myeloid Leukemia, AML)類型之微陣列檢測晶片的製作以及相關檢測為例加以說明，唯本發明並不限於下述所揭露之內容。

第 1 圖所示，其繪示依照本發明一較佳實施例的一種細胞檢測晶片之製作流程圖。

首先，請參照第 1 圖，針對細胞膜上之多種特異性分

子設計多個探針分子，且每一個探針分子與細胞膜表面上對應之特異性分子之間具有親和力(步驟 100)。以急性骨髓性白血病來說，當帶有特定抗原之病菌，進入患者體內時，爲了消滅這些病菌，患者之免疫系統會產生抗體來對抗這些病菌。此時，患者體內會同時具有正常的細胞以及遭到病菌感染而病變的細胞，而且在這些病變細胞之細胞膜表面上係存在有抗原，以及對抗這些抗原的抗體。依照 FAB(French-American-British)的分類系統可將 AML 分成七種類型。而以下表 1 係列示出這七種類型以及對應之抗原。

表 1

抗原類型	急性骨髓性白血病的類型						
	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7
CD34	W	W		W	W	+	W
HLA-DR	+	+					T
CD13	+	+	+	+	+	+	W
CD33	+	+	+	+	+	+	W
CD15	+	+	+	+	+		
CD14		T		+	+		
CD11b		T		+	+		
CD36				+	+	+	T
CD71						+	
Glyco						+	
CD41				T	T		+
CD61				T	T		+
Platelet Ab							+

W : weak 弱反應 ; T : trace 少量反應

由表 1 可知，不同之急性骨髓性白血病類型，在病變細胞的細胞膜表面上會有不同之抗原反應。而且由於抗體與抗原之間是具有特異性，亦即特定的抗原與特定的抗體之間係存在一親和力，所以特定的抗原只會與特定的抗體結合。因此，在探針設計上可以利用 CD34 抗原、HLA-DR 抗原、CD13 抗原、CD33 抗原、CD15 抗原、CD14 抗原、CD11b 抗原、CD36 抗原、CD71 抗原、Glyco 抗原、CD41 抗原、CD61 抗原與 Platelet Ab 抗原作為探針分子，以檢測出患者所罹患之急性骨髓性白血病的類型。在另一較佳實施例中，亦可以上述這些抗原對應之抗體作為探針分子，以檢測出患者所罹患之急性骨髓性白血病的類型。此外，在又一較佳實施例中，可以上述之抗原以及其對應的抗體所組成之族群作為探針分子，以檢測出患者所罹患之急性骨髓性白血病的類型。

值得注意的是，在表 1 中，細胞膜表面上所呈現之抗原表現為“弱反應(W)”或是“少量反應(T)”，係表示在判別患者所罹患之急性骨髓性白血病的類型時，此“弱反應(W)”或是“少量反應(T)”係為判別之次要指標。亦即，在判定急性骨髓性白血病的類型時，係以“+”做為優先判定的依據，且以“弱反應(W)”或是“少量反應(T)”作為輔佐判定的依據。例如，以 M1 型與 M2 型來說，在病變細胞上係存在有 CD34 抗原、HLA-DR 抗原、CD13 抗原、CD33 抗原與 CD15 抗原。此時，則需藉由病變細胞上是否存在有少量之 CD14 抗原與 CD11b 抗原來區別 M1 型與 M2 型。

然後，進行探針合成步驟，以形成多數個探針(步驟

102)。其中，合成這些探針時，可以對探針化合物進行修飾(Modified)，如此當後續在進行點樣步驟時，可使這些探針化合物藉由共價(Covalent)作用力與基材表面上之官能基(Functional Group)鍵結(Bind)，而固定於基材上。

接著，將這些探針分別溶解於溶劑中，以形成所對應之多個探針溶液(步驟 104)。其中，此點樣溶劑係為 pH9.5 之磷酸鹽緩衝液水溶液(PBS)，而這些探針溶液的濃度例如是 150 mg/L。

之後，進行點樣步驟，以將這些探針溶液分別點樣於基材上(步驟 106)。其中，點樣步驟所點出的點之半徑大小例如是介於 50 至 500 微米之間，其端視不同之點樣方式而定。值得一提的是，於基材上所進行之點樣，每一個探針溶液並不限於只進行一次之點樣，其端視不同之需求情況而定。而且基材的面積相對於這些點狀的探針水溶液可說是相當地大，因此基材上可能會分佈有數十點甚至數千點的探針水溶液。而且使用玻璃基材，對於後續之檢測來說，可以不需要特殊的設備，其僅需一台普通或現有的光學顯微鏡(Optical Microscope)即可進行檢測結果的分析。

繼之，進行水化(Wetting)步驟，以使此基材保持在潮濕的環境中(步驟 108)。其中，此水化步驟例如是於攝氏 37 度的環境下，持續進行 45 分鐘。

然後，進行一烘乾步驟，以烘乾此基材(步驟 110)。其中，此烘乾步驟例如是於攝氏 40 度的環境下，持續進行 2 小時。

接著，進行基材潔淨步驟，以清潔此基材(步驟 112)。其中，此基材潔淨步驟包括先後進行一清洗步驟以及一乾燥步驟。其中，清洗步驟所使用之清洗液係由緩衝液(Buffer)與去離子水所構成，且此緩衝液係由 PBS 與 0.1% 硫酸十二酯鈉水溶液(Sodium dodecyl sulfate, SDS)所構成。

繼之，利用封閉液(Blocking Solution)進行封閉(Blocking)步驟，以封閉未有探針點樣之基材表面(步驟 114)。其中，所使用之封閉液例如是由 1%之牛血清蛋白(Bovine Serum Albumin, BSA)與 0.01mol/L 之磷酸緩衝液(Phosphate Buffer, PB)所構成之 pH 7 的水溶液。

繼之，再次進行基材潔淨步驟，以清潔此基材(步驟 116)。其中，此基材潔淨步驟包括先後進行一清洗步驟以及一乾燥步驟，且此基材潔淨步驟可以重複進行數次以上，直到基材完全潔淨為止。其中，此清洗步驟所使用之清洗液例如是去離子水，以藉由去離子水之清洗將過多之封閉液洗去。在一較佳實施例中，此基材潔淨步驟例如是重複進行 3 次。

利用上述之方法即可完成檢測晶片的製作，且由於此檢測晶片上分布有多個與細胞膜表面上的特異性分子有關之分子探針，因此，此檢測晶片可以辨識出不同的細胞(例如：正常細胞與病變細胞)，並且確認 AML 的類型，以作為提供患者適當的治療的參考依據。

特別值得一提的是，先前於進行探針設計(步驟 100)之步驟中，更可以設計數個質控探針(Quality Control Probe)。而且後續於進行合成步驟及點樣步驟(步驟 102~

步驟 116)時，亦合成出質控探針並且將其固定於基材上，以使所製得之細胞檢測晶片上具有質控探針。而此質控探針係與檢體中的特定物質有關，其係用以確認所取的檢體是否為有效檢體，避免造成檢測結果的誤判。

除此之外，除了質控探針的設計之外，先前於進行探針設計(步驟 100)之步驟中，更可以同時設計數個陣列位置指示探針(Location Indicate Probe)。同樣地，後續於進行合成步驟及點樣步驟等步驟(步驟 102~步驟 116)時，亦合成出陣列位置指示探針並且將其固定於基材上，以使所製得之細胞檢測晶片上具有陣列位置指示探針。而此陣列位置指示探針可視為微陣列晶片上之一種位置標記，藉由此陣列位置指示探針，可以確認出微陣列晶片上之各個探針的相對位置，避免檢測結果的誤判。

此外，利用上述方法所得之細胞檢測晶片係包括多數個探針固定於基材上，且每一個探針與細胞膜表面上對應之特異性分子之間具有親和力。其中，這些探針例如是抗體與抗原所組成之族群其中之一。

以急性骨髓性白血病來說，這些探針例如是表 1 所示之抗原、或表 1 所示之抗原對應的抗體、或是表 1 所示之抗原以及對應的抗體所組成之族群其中之一。而且，表 1 所示之抗原類型或對應之抗體類型或是抗體與抗原之類型可以重複出現數次，如此即可構成具有數十個或數千個探針的微陣列檢測晶片。

由於這些探針係與 AML 病患者之體內中細胞膜表面所呈現之抗體或是抗原有關，因此，可以利用此檢測晶片

檢測患者所罹患之 AML 的類型。

接著，係利用上述所製得之微陣列檢測晶片進行患者所罹患之 AML 類型之檢測，其相關說明如下。

第 2 圖所示，其繪示本發明一較佳實施例的一種細胞的檢測方法之步驟流程圖。

首先，請參照第 2 圖，提供微陣列檢測晶片(步驟 200)。此微陣列檢測晶片例如是利用先前所述之方法所得之微陣列檢測晶片，且此微陣列檢測晶片上具有多種可檢測細胞膜表面上之抗體類型或抗原類型之特異性探針。在一較佳實施例中，此微陣列檢測晶片上除了具有可檢測細胞膜表面上之抗體類型或抗原類型之特異性探針之外，更固定有質控探針或是/以及位置指示探針。

接著，取得患者之檢體，且此檢體中包括有多數個游離細胞(Free Cell)(步驟 202)。其中，患者的檢體例如是胸水(Pleural Fluid)、腹水(Ascites)、尿液(Urine)或血液(Blood)。而且在取得檢體之後，需利用 PBS 水溶液進行數次清洗。在一較佳實施例中，當利用 PBS 水溶液進行清洗時，每次清洗的時間約為 5 分鐘，清洗次數 3 次，並且調整細胞之濃度為 $10^8/L$ 。

然後，進行細胞反應步驟，以使這些游離細胞之細胞膜表面上的特異性分子與微陣列檢測晶片上之這些探針反應(步驟 204)。其中，此反應例如是於室溫之潮濕盒(Wet Box)持續進行 20 分鐘。而且在反應的過程中，可以藉由搖動此潮濕盒，而使其反應更為完全。於此步驟 204 中，若由患者檢體所取得之細胞其細胞膜表面具有與探針相互對應

之抗體或是抗原，則細胞會藉由細胞膜上之抗體或抗原與探針之間的親和力(例如：凡得瓦力)，而被捕捉於檢測晶片上。

接著，進行多次之清洗步驟，以清洗此微陣列檢測晶片(步驟 206)。其中，這些清洗步驟所使用之清洗液例如是使用室溫之 PBS 水溶液。而且，藉由此清洗步驟(步驟 206)，可以將未與探針進行反應(步驟 206)之細胞洗去，而僅留下與探針反應之細胞。

然後，進行細胞反應之結果觀察步驟(步驟 208)。在步驟 208 中，其例如是利用普通或現有的光學顯微鏡，進行反應結果之觀察，以初步確認反應之結果。

之後，進行細胞固定(Fix)步驟，以使這些游離細胞固定於微陣列檢測晶片上(步驟 210)。在步驟 210 中，其例如是利用 2.5%的戊二醛(Glutaraldehyde)持續進行 5 分鐘。

繼之，對此微陣列檢測晶片進行分析步驟(步驟 212)。在本發明中，此分析步驟並無特別之限制，其端視不同之需求而定。亦即，使用者可以針對不同之需求，進行不同的分析步驟。因此，此分析步驟可以是常規染色(Rule Staining)、組織化學染色(Immunohistochemistry Staining)、原位雜交(In-Situ Hybridization)、細胞培養(Cell Culture)、藥物分析(Drug Analysis)或其他適合的分析方式。當然，有些分析方式需對檢測晶片進行不同之分析前處理步驟，而關於此部分係為熟知此技藝者所知，於此不再贅述。以下係以常規染色分析方式為例，來加以說明，當細胞固定步驟(步驟 210)進行完畢之後，係利用瑞氏染液(Wright's

Stain)，進行 15 分鐘之常規染色。接著，利用三色螢光染料(Three-Color Fluorescent Dye)對此微陣列晶片進行染色。然後，利用螢光掃描儀(Fluorescence Scanner)掃描此微陣列晶片，以取得多數筆檢測資料。之後，使用與螢光掃描儀相互搭配之分析軟體，以將微陣列檢測晶片之分析結果輸出，如此即可得知患者所罹患之 AML 的類型。其中此掃描儀例如是由 Genomic Solutions 所提供。

當然，在本實施例中，雖然僅以 AML 的類型檢測來說明本發明，唯本發明並不限於此應用中。本發明亦有其他之應用領域。在另一較佳實施例中，其係以細胞表面(Cell Surface)上的糖蛋白抗體(Glyco-Protein Antibody)作為探針，以進行不同類型之惡性腫瘤及抗藥性的分析。在又一較佳實施例中，其係以原位癌基因蛋白(In Situ Carcinoma Gene Protein)的抗體作為探針，以進行乳腺癌(Breast Cancer)、卵巢癌(Ovarian Cancer)、肺癌(Lung Cancer)、胃癌(Gastric Cancer)、食道癌(Esophagus Cancer)、子宮頸癌(Cervical Cancer)、涎腺癌(Salivary Gland Cancer)或膀胱癌(Bladder Cancer)等癌症的分析，並且分析細胞的類型。在再一較佳實施例中，其係以細胞骨架蛋白(Cyto Skeleton Protein)抗體作為探針，以進行惡性腫瘤轉移及浸潤機制 Mechanism of Malignancy Transfer and Infiltration)的分析。在另一較佳實施例中，其係以白細胞(white cell)表面抗原(Surface Antigen)作為探針，以進行血液和各種體液(Body Fluid)中細胞的種類及惡性腫瘤的分析。在又一較佳實施例中，其係以細胞表面上之受體抗體(Receptor

Antibody)作為探針，以進行不同細胞類型之分析。在再一較佳實施例中，其係以惡性腫瘤細胞膜標定物抗體(Target Antibody of the Malignancy Cell Membrane)作為探針，以進行腫瘤(Tumor)類型的分析。

綜上所述，本發明至少具有下面的優點：

1.利用本發明之方法可以完成細胞檢測晶片的製作，且由於此微陣列檢測晶片上係分布有多個與細胞膜表面上的特異性分子有關之分子探針，因此此檢測晶片可以辨識出不同的細胞類型(例如：正常細胞與病變細胞)，並且確認患者所罹患之疾病的類型，以作為提供患者適當的治療的參考依據。

2.利用本發明之微陣列檢測晶片來檢測細胞，可以同時獲取大量且精確之檢測結果。

3.本發明之微陣列檢測晶片可以做為細胞分類學檢測、細胞生理、細胞生化、細胞毒理、藥理及細胞發育等方面研究的技術平台。

雖然本發明已以較佳實施例揭露如上，然其並非用以限定本發明，任何熟習此技藝者，在不脫離本發明之精神和範圍內，當可作些許之更動與潤飾，因此本發明之保護範圍當視後附之申請專利範圍所界定者為準。

【圖式簡單說明】

第 1 圖是依照本發明之一較佳實施例的一種細胞檢測晶片之製作流程圖。

第 2 圖是依照本發明之一較佳實施例的一種細胞的檢測方法之步驟流程圖。

【圖式標記說明】

100、102、104、106、108、110、112、114、116、200、
202、204、206、208、210、212：步驟標號

拾、申請專利範圍：

1.一種細胞檢測晶片(Cell Detection Chip)的製造方法，包括：

設計多數個探針分子(Probe Molecule)，且每一該些探針分子與一細胞膜(Cell Membrane)表面上對應之一特異性(Specific)分子之間具有一親和力(Affinity)；

進行一探針合成(Synthesis)步驟，以形成多數個探針；以及

進行一點樣步驟，以將該些探針分別點樣(Spot)於一基材(Matrix)上。

2.如申請專利範圍第 1 項所述之細胞檢測晶片的製造方法，其中該些特異性分子至少包括抗體(Antibody)與抗原(Antigen)所組成之族群其中之一。

3.如申請專利範圍第 1 項所述之細胞檢測晶片的製造方法，其中在設計該些探針分子時，更包括設計多數個質控探針(Control Probe)。

4.如申請專利範圍第 1 項所述之細胞檢測晶片的製造方法，其中在設計該些探針分子時，更包括設計多數個陣列位置指示探針(Location Indicate Probe)。

5.如申請專利範圍第 1 項所述之細胞檢測晶片的製造方法，其中在進行該探針合成步驟之後，更包括將該些探針分別溶解於一溶劑中，以形成所對應之多數個探針溶液。

6.如申請專利範圍第 1 項所述之細胞檢測晶片的製造方法，其中在該點樣步驟之後，更包括進行一水化(Incubate)

步驟，以使該基材保持在一潮濕環境中。

7.如申請專利範圍第 6 項所述之細胞檢測晶片的製造方法，其中在該水化步驟之後，更包括：

進行一烘乾步驟，以烘乾該基材；以及

進行一基材潔淨步驟，以清潔該基材。

8.如申請專利範圍第 7 項所述之細胞檢測晶片的製造方法，其中在該基材潔淨步驟之後，更包括：

利用一封閉液(Blocking Solution)進行一封閉(Blocking)步驟，以封閉未有該些探針點樣之該基材表面；以及

再次進行該基材潔淨步驟，以清潔該基材。

9.如申請專利範圍第 1 項所述之細胞檢測晶片的製造方法，其中該點樣步驟所點出來之點的半徑大小係介於 50 至 500 微米之間。

10.一種微陣列(Microarray)檢測晶片，該微陣列檢測晶片係適用於檢測一細胞膜表面上之多數個特異性分子，該微陣列檢測晶片包括：

多數個探針，固定(Immobilized)於一基材上，且每一該些探針與該細胞膜表面上對應之該些特異性(Specific)分子的其中一個特異性分子之間具有一親和力。

11.如申請專利範圍第 10 項所述之微陣列檢測晶片，其中該些特異性分子至少包括抗體(Antibody)與抗原(Antigen)所組成之族群其中之一。

12.如申請專利範圍第 10 項所述之微陣列檢測晶片，更包括多數個質控探針，固定於該基材上。

13.如申請專利範圍第 10 項所述之微陣列檢測晶片，

更包括多數個陣列位置指示探針，固定於該基材上。

14.一種細胞的檢測方法，該方法係適用於檢測一細胞膜表面上之多數個特異性分子，該方法包括：

提供一微陣列檢測晶片，且該微陣列檢測晶片係為如申請專利範圍第 10 項所述之微陣列檢測晶片；

取得一患者之一檢體，且該檢體中包括有多數個游離細胞(Free Cell)；

進行一細胞反應步驟，以使該些游離細胞之細胞膜表面上的該些特異性分子與該微陣列檢測晶片上之該些探針反應；

進行一細胞固定(Fix)步驟，以使該些游離細胞固定於該微陣列檢測晶片上；以及

對該微陣列檢測晶片進行一分析步驟。

15.如申請專利範圍第 14 項所述之細胞的檢測方法，其中在該細胞反應步驟之後，更包括進行多數次之清洗步驟，以清洗該微陣列檢測晶片。

16.如申請專利範圍第 14 項所述之細胞的檢測方法，其中該微陣列檢測晶片上更包括固定有多數個質控探針。

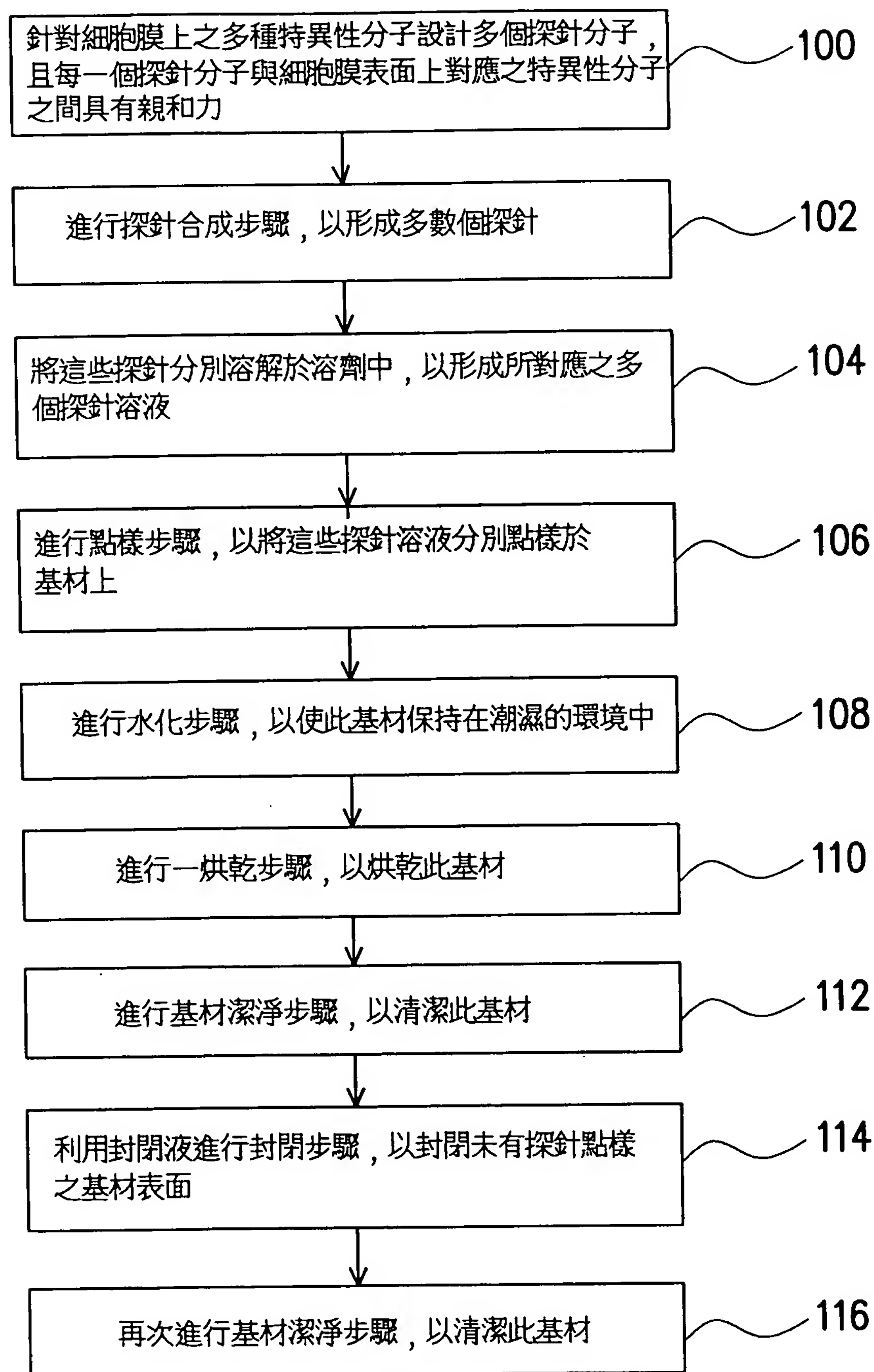
17.如申請專利範圍第 14 項所述之細胞的檢測方法，其中該微陣列檢測晶片上更包括固定有多數個陣列位置指示探針。

18.如申請專利範圍第 14 項所述之細胞的檢測方法，其中在該細胞反應步驟與該細胞固定步驟之間，更包括進行一細胞反應之結果觀察步驟。

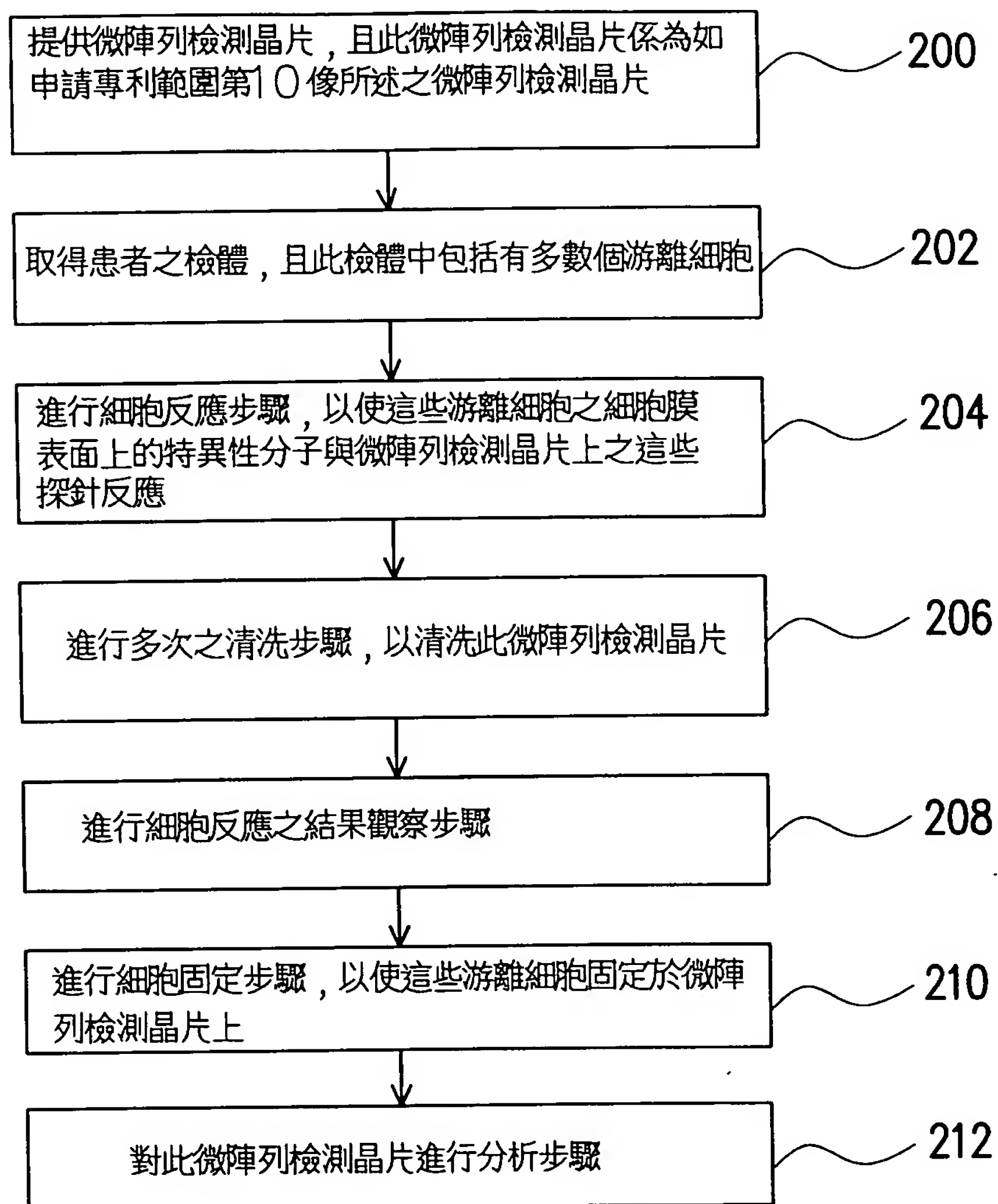
19.如申請專利範圍第 14 項所述之細胞的檢測方法，

其中該分析步驟包括常規染色(Rule Staining)、組織化學染色(Immunohistochemistry Staining)、原位雜交(In-Situ Hybridization)、細胞培養(Cell Culture)與藥物分析(Drug Analysis)其中之一。

20.如申請專利範圍第 14 項所述之細胞的檢測方法，其中該檢體包括胸水(Pleural Fluid)、腹水(Ascites)、尿液(Urine)與血液(Blood)其中之一。



第 1 圖



第 2 圖